

**UNIVERSIDAD SAN PEDRO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**Multirresistencia de betalactamasas de espectro  
extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de  
urocultivos.**

**Tesis Para Obtener el Título de Químico Farmacéutico**

**Autor:**

**Br. Arroyo Saldarriaga Kevin Randel**

**Asesor:**

**Mg. César Braulio Cisneros Hilario**

**CHIMBOTE – PERÚ**

**2019**

**i.- Palabras clave**

<b>Tema</b>	Multirresistencia, Escherichia coli., urocultivos, betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
<b>Especialidad</b>	Farmacia y Bioquímica

**Keywords**

<b>Subject</b>	Multiresistance, Escherichia coli, uroculture, extended-spectrum beta-lactamases (BLEE).
<b>Speciality</b>	Pharmacy and Biochemistry

<b>Línea de Investigación</b>	Recursos Naturales Terapéuticos y Fitoquímica
<b>Área</b>	Ciencias médicas y de salud.
<b>Subarea</b>	Medicina básica.
<b>Disciplina</b>	Farmacología y Farmacia

**ii.- Título**

**Multirresistencia de betalactamasas de espectro extendido  
en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos.**

### **iii.- Resumen**

La presente investigación pretende determinar la multirresistencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos, para lo cual se utilizó urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018, la investigación fue de tipo preclínico, experimental. Para lo cual se aisló, cultivó y enfrentó a la bacteria *E. Coli* con los medicamentos de amplio espectro como el aztreonan, ceftriaxona, ceftazidima y cefotaxima, se midieron los halos de inhibición y se encontró lo siguiente: Se logró aislar 40 cepas de *Escherichia coli*, evidenciando una resistencia antibiótica con aztreonan 47,5 (19/40), ceftriaxona 42,5% (17/40), ceftazidima 35% (14/40), cefotaxima 62,5% (25/40). También se determinaron los factores asociados a la presencia de betalactamasas siendo los más relevantes: la edad, sexo, incontinencia urinaria, litiasis renal, uso de antibiótico en los últimos tres meses, ITU en el último año e ITU severa. Concluyendo que existe una multirresistencia del 35% debido a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos.

**Palabras clave:** Multirresistencia, *Escherichia coli*., urocultivo, betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

#### **iv.- Abstract**

The present research aims to determine the multiresistance of extended-spectrum beta-lactamases in strains of *Escherichia coli* isolated in urocultures, for which urocultures were used from patients seen in the clinic Salud primavera, Chimbote April-July 2018, the research was of preclinical, experimental type . For which it was isolated, cultivated and faced the bacterium *E. Coli* with broad-spectrum drugs such as aztreonam, ceftriaxone, ceftazidime and cefotaxime, inhibition halos were measured and the following was found: 40 isolates of *Escherichia coli* were isolated, evidencing antibiotic resistance with aztreonam 47.5 (19/40), ceftriaxone 42.5% (17/40), ceftazidime 35% (14/40), cefotaxime 62.5% (25/40). The factors associated with the presence of beta-lactamases were also determined, being the most relevant: age, sex, urinary incontinence, renal lithiasis, antibiotic use in the last three months, UTI in the last year and severe UTI. Concluding that there is a multiresistance of 35% due to the presence of extended-spectrum beta-lactamases in strains of *Escherichia coli* isolated in urocultures.

Key words: Multiresistance, *Escherichia coli*, uroculture, extended-spectrum beta-lactamases (BLEE).

## Indice

	Pág
Palabras clave- Línea de investigación .....	i
Título de la investigación .....	ii
Resumen .....	iii
Abstract .....	iv
Índice .....	v
Introducción .....	1
Antecedentes y fundamentación científica .....	1
Justificación de la investigación .....	7
Problema .....	11
Marco Referencial .....	11
Hipótesis .....	38
Objetivos .....	39
Metodología .....	40
Tipo y Diseño de investigación .....	40
Población – Muestra .....	40
Técnicas e instrumentos de investigación .....	41
Resultados .....	44
Análisis y Discusión .....	48
Conclusiones .....	51
Recomendaciones .....	52
Agradecimiento .....	53
Referencias Bibliográficas .....	54
Anexos .....	64

## **I. Introducción**

### **1.1. Antecedentes y fundamentación científica.**

Las enterobacterias constituyen el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gran negativos de gran importancia en la patología infecciosa, estando implicados en diferentes síndromes clínicos (Rivera, 2011; Hernández, 2009), constituyen una amplia familia de bacilos aerobios y anaerobios facultativos, que no forman esporas. Pueden presentar movilidad gracias a que en algunos casos cuentan con flagelación peritrica. Tienen requerimientos nutricionales relativamente simples y fermentan azúcares con diversos productos finales. No producen oxidasas pero reducen los nitratos y poseen cierta resistencia a agentes externos (Nájera, 2005; Madigan, 2004).

Son organismos ubicuos que yacen en el suelo, el agua, y la vegetación; son el componente mayor de la flora normal intestinal pero son poco frecuentes en otros sitios del organismo; algunos organismos se asocian siempre con enfermedad mientras que otros como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* forman parte de la flora comensal y pueden causar infecciones oportunistas en determinadas circunstancias. El género *Escherichia* puede infectar sistema nervioso central, tracto respiratorio bajo, torrente sanguíneo, tracto gastrointestinal y tracto urinario (Bueno, 2010).

*Escherichia coli* es el miembro más importante de la familia Enterobacteriaceae que pertenece a la subclase  $\gamma$  de las proteobacterias (Abanto, 2009). Es el

microorganismo predominante de la flora normal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo del hombre, y se elimina por las heces al exterior. Se puede encontrar en el medio ambiente ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento es un indicador de contaminación fecal (Rosas, 2006).

El descubrimiento de los antimicrobianos y su aplicación en la práctica médica han sido unos de los principales avances en la historia de la medicina (Bretón, 2004). En 1928 Fleming observó el efecto inhibidor del *Penicillium*, un hongo filamentoso, sobre el crecimiento de bacterias en una placa de cultivo, pero fue en la década de los 40 cuando se consigue la producción industrial de la penicilina gracias a los estudios de Florey y Chain (Hernández, 2009). Tras 70 años de uso clínico, que se iniciaron con la administración de penicilina a un paciente con sepsis estafilocócica en 1941, los betalactámicos son los antimicrobianos más prescritos, tanto en atención primaria como en los hospitales (Marín, 2003).

Los antibióticos betalactámicos constituyen el principal grupo de antibióticos y son los más utilizados para el tratamiento de las infecciones humanas. Esta familia de antibióticos viene definida químicamente por la presencia de un anillo betalactámico en su estructura, originándose cinco grandes grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactamas e inhibidores de las betalactamasas (Hernández, 2009).

La similitud estereoquímica del anillo betalactámico con el dipéptido d-alanina-d-alanina, que enlaza las cadenas de *N*-acetilmurámico y *N*-acetilglucosamina del



peptidoglicano (García, 2011), les permite interaccionar con diversas proteínas enzimáticas con actividad de transpeptidasas y carboxipeptidasas situadas en la superficie de la membrana plasmática bacteriana, moléculas encargadas de modelar la configuración definitiva de la capa del peptidoglucano, además de guiar su reorganización durante la división de las bacterias. A estas proteínas de membrana las conocemos genéricamente como proteínas fijadoras de penicilina (PBP). La actividad antibacteriana de los betalactámicos está en relación con su capacidad para interferir, de forma competitiva, en la actividad de las PBPs (Solórzano, 2004).

La acción bactericida de los antibióticos betalactámicos no está ligada directamente a la interferencia con la síntesis del peptidoglucano. El bloqueo de las PBPs permite la actuación de enzimas hidrolíticas (autolisinas endógenas), y como consecuencia se produciría la lisis (Solórzano, 2004). En presencia del antibiótico, las transpeptidasas hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico y se forma un éster estable entre el compuesto hidrolizado y un grupo hidroxilo de la serina del sitio activo de la enzima. Con ello se inhibe la transpeptidación, se desestabiliza la pared celular y finalmente se produce la lisis mediada por autolisinas (García, 2011).

Rivera (2012), realizó un análisis de genotipificación que evidenció la presencia de Betalactamasas en 22 cepas analizadas, SHV-TEM-CTX-M en 45,5%; TEM-CTX-M 22,7%; CTX-M 18,2%; SVHTEM en 9,1% y SHV en 4,5%. España

(2000), el 51% de los aislados de *E. coli* productores de BLEE son extrahospitalarios y las más frecuentemente fue del grupo CTX-M-9.

En España diversos estudios han reportado resistencia global en aislamientos urinarios; en Ampicilina (AMP) un 58,7%, en Ciprofloxacino (CIP) un 22,8% y un 33,9 % en Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT), entre otros antibióticos, alcanzando tasas más elevadas en otras comunidades :AMP, 65%; CIP, 31,9 %; y SXT; este aumento conlleva fracasos en los tratamientos empíricos, de manera que se hace necesario el conocimiento de la epidemiología local, así como de los fenotipos de sensibilidad más frecuentes para poder adecuar mejor los tratamiento (Sahm, et al., 2001).

La prevalencia de microorganismos productores de BLEE posiblemente se encuentre subestimada por las dificultades de su detección en el laboratorio, sin embargo queda claro que están distribuidas por todo el mundo y los primeros casos en Enterobacterias fueron detectados en Europa. (López-Cerero y Álvaro, 2007).

En España (2000) se llevó a cabo un estudio multicéntrico (participaron 40 hospitales); se halló una frecuencia de producción de BLEE en *E. coli* del 2,7%. En el 2009, en el mismo país, otro estudio realizado en 34 hospitales, demostró un aumento en el porcentaje de producción de BLEE en *E. coli*, del 4,04% (rango

de 0,4 a 20,3). También reportó que el 67,2% de las *E. coli* productora de BLEE es de origen comunitario, porcentaje aún superior al observado en el año 2000 (51%). Cabe destacar que de todos los casos de origen comunitario, el 53,1% tuvo alguna relación con la asistencia sanitaria, lo que supone que el 31,5% del total de *E. coli* productora de BLEE son casos puramente comunitarios (Díaz, 2006).

En Japón (1986) se detectó la BLEE-FEC-1 en *E. coli*, la cual fue posteriormente detectada en Alemania, Argentina, Francia e Italia denominándose BLEE-CTX-M. (Naas, et al., 2008).

En Latinoamérica las cepas de Enterobacterias productoras de BLEE parecen ser muy frecuentes en muchos países de la región con índices que alcanzan el 8.5% para *E. coli*. Para América Latina, estudios recientes indican la prevalencia más alta en el mundo con un 8.5-18.1% para *E. coli*. (Villegas, 2008).

En Canadá, Johnson y colaboradores (2008). Demostraron que el uso de Fluoroquinolonas en la comunidad en el escenario de una alta resistencia a SXT inducía igualmente una resistencia alta a estos antibióticos, la resistencia a SXT aumentó de 26,1% a 29,6% y la de Levofloxacin de 1 a 9% en un periodo de 6 años.

En estudios multicéntricos como el ESGNI-003 (Europa) y SENTRY (E.E.U.U.) se encontró que *E.coli* presentaba una resistencia menor del 4% a Fluoroquinolonas al igual que el estudio de Leblebicioglu H. et al, donde la resistencia a Quinolonas fue 8,2% y aproximadamente 20% a Cefalosporinas (23-26) Un estudio realizado Lima-Perú, reportó elevada resistencia de *E. coli* a las Fluoroquinolonas en ambos sexos. La CIP registró una resistencia de 69,8% y 78,4% en mujeres y hombres, respectivamente. En mujeres, la Gentamicina (G) mostró una actividad de sólo 38,6%; Amikacina (Ak) mantiene una cifra de resistencia de sólo 7,8% (Astete, et al., 2004).

En el Perú, se tienen reportes locales sobre el avance de la resistencia a los antibacterianos en varios hospitales y clínicas en Lima, Arequipa y Cajamarca.

En año 2006, Zavala E. realizó un trabajo cuantitativo descriptivo en el que determinó que el 81.89% de las enterobacterias estudiadas fueron productoras de BLEE y al evaluar la multirresistencia antibiótica determinó que el grupo productor de BLEE poseía una mayor multirresistencia (12.9%) que el grupo no productor de BLEE (3.96%). Abanto L., en el 2009, evaluó la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en 50 cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos y determinó que la frecuencia de producción de estas enzimas fue de un 44%. En un estudio realizado el mismo año por Rivera M. , se evaluó a 45 cultivos de enterobacterias de importancia clínica, de los cuales doce presentaron resistencia por BLEE a cefalosporinas de tercera generación y/o monobactámicos, cuatro *E. coli* y cuatro *E. cloacae* fueron los más relevantes.

## 1.2. Justificación de la investigación

En los últimos años, la resistencia antimicrobiana ha emergido como un asunto de salud pública importante, puesto que continúa en firme aumento a pesar de la introducción de nuevos antibióticos, y es la causa de un alto índice de mortalidad que puede avanzar a mayores consecuencias, de seguir en la misma línea respecto del abuso de los antibióticos, además del daño económico que representa para la población. La evolución de las bacterias a través del tiempo ha permitido que se produzca una multitud de especies diferentes y, a la vez, ha generado una diversidad de mecanismos de resistencia, que combaten los retos con los antibióticos. Como resultado de esto, incluso las bacterias que nunca han estado expuestas a antibióticos comerciales están en capacidad de producir genes de resistencia a medicamentos (Solórzano, 2004).

No sólo hay una cantidad de especies patógenas que son potencialmente resistentes a los antibióticos, sino que los medios utilizados para causar dicha resistencia son muy variados.

Cada patógeno puede requerir una estrategia compensatoria específica cuando emergen cepas resistentes en un ambiente clínico. Por ello es de especial interés los mecanismos responsables de la resistencia de *Escherichia coli* a betalactamasas de espectro extendido, que han surgido con el uso indiscriminado de estos medicamentos. La tendencia actual en todo el mundo es la realización de estudios de vigilancia epidemiológica para tratar de establecer e identificar patógenos prevalentes y así desarrollar estrategias de control y prevención

encaminadas a ayudar al médico a supervisar más de cerca la terapia antibiótica o a seleccionar una terapia alterna para el adecuado manejo de infecciones. Una terapéutica correcta puede controlar progresivamente la resistencia bacteriana, sobre todo intrahospitalaria, y con ello en un futuro se podría aspirar a la erradicación de cepas emergentes productoras de BLEE (Del Río, 2007).

Las Enterobacteriaceae representan aproximadamente el 50% de los microorganismos de importancia clínica. *Escherichia coli* es la más importante y la más descrita como causa de patología en los seres humanos.

La vía urinaria es el origen de la mayoría de las bacteriemias y su posterior diseminación a otros tejidos, así mismo constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes en la comunidad y en el intrahospitalario (Blanco y Cremona, 2009).

Los antibióticos betalactámicos son el principal grupo de antimicrobianos y el más utilizado para el tratamiento; son activos frente a las Grampositivas, Gram-negativas y Espiroquetas. Su eficacia está en continuo reto debido a la emergencia de cepas bacterianas resistentes que producen Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE), un grupo de enzimas producidas por bacilos Gram-negativos que hidrolizan Cefalosporinas y últimamente las Cefamicinas, pero no a los Carbapenémicos. Están mediadas generalmente por plásmidos y derivan de otras enzimas con menor espectro hidrolítico. Resaltan en este grupo a las Cefotaximasas (CTX), (Hernández, 2009).

Queda claro entonces que las BLEE, constituyen un problema terapéutico y epidemiológico de gran magnitud; la presencia de estas cepas en las infecciones, conllevan a multirresistencia ya que son portadoras de otros genes que provocan resistencia cruzada a Quinolonas, Aminoglucósidos e incluso Cotrimoxazol; de ahí la gran importancia de una adecuada y oportuna identificación.

A nivel mundial existe un aumento en la resistencia de los uropatógenos de la comunidad, no solo a los antimicrobianos usados como primera línea de tratamiento (aminopenicilias y cefalosporinas de primera generacion, trimetoprim /sulfametoxazol, ciprofloxacina y norfloxacina), sino incluso a múltiples antimicrobianos por cepas productoras BLEE. *E. coli* uropatogénica productora de CTX-M-15 se ha identificado como causante de infecciones adquiridas en la comunidad e infecciones asociadas al cuidado de la salud, así también se ha observado en las últimas décadas que el fenotipo salvaje de *E. coli* está asistiendo a un aumento de la multirresistencia, (Celis, 2012).

Las instituciones hospitalarias de países con recursos limitados tienen tasas de infecciones nosocomiales más altas y a su vez cuentan con menos recursos para invertir en la aplicación de programas de prevención de estas infecciones. Factores asociados a la actitud de los trabajadores de salud, hacen más complicado el control de las infecciones en nuestros hospitales. Las consecuencias de ignorar la presencia de las bacterias productoras de BLEE en nuestra realidad, puede condicionar al fracaso del tratamiento, lo que conllevaría a aumentar la resistencia y diseminación de este tipo de microorganismos desde

el espacio intrahospitalario a la comunidad. Se ha constatado en varios países un aumento de las ITU del medio extrahospitalario producidas por cepas de *E. coli* productoras de BLEE. Debido a que en nuestro medio la detección de gérmenes de esta naturaleza no se realiza en la gran mayoría de establecimientos de salud, y como existen reportes de brotes intrahospitalarios por gérmenes resistentes, así como de infecciones complicadas en la comunidad, se consideró necesario plantear la propuesta de investigación, en la que se determinó microbiológicamente el porcentaje de cepas *E. coli* aisladas de urocultivos productoras de BLEE provenientes de ambientes comunitarios e intrahospitalarios. El presente estudio permitirá también orientar al clínico en el control y manejo de las infecciones, de origen intrahospitalario y comunitario, y evitar la expansión de bacterias de esta naturaleza y todo lo que se genera como consecuencia del manejo inadecuado de los antibióticos.

### **1.3 Problema**

¿Se logrará determinar las betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos provenientes de pacientes atendidos por infección de tracto urinario en la Clínica Salud Primavera Chimbote, durante el periodo comprendido entre abril y julio del 2018?

### **1.4 Marco Referencial**



#### **1.4.1. LA FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE**

La familia Enterobacteriaceae, son bacilos gram-negativos de gran importancia en la patología infecciosa, estando implicados en diferentes síndromes clínicos. Es el grupo de microorganismos que más frecuentemente se aísla en los laboratorios clínicos de microbiología, produciendo infecciones tanto en pacientes con inmunidad conservada como en inmunodeprimidos y son causantes de diferentes tipos de infecciones tanto de adquisición en la comunidad como nosocomiales (Hernández, Martínez-Martínez et al., 2005) (Hernández, Pascual et al., 2003).

Los miembros de esta familia forman parte de la microbiota intestinal, pero además, en pacientes alcohólicos, diabéticos o ingresados en un hospital se pueden aislar de la cavidad oral y faringe (Hernández, Martínez-Martínez et al., 2005)

#### **1.4.2. *Escherichia coli***

Fue descrita por primera vez por Theodor Escherich en 1885, quien determinó que existía esta bacteria bajo la forma de huésped habitual del ser humano. En 1919 se le dio la denominación, por Castellani y Chalmers, y se convirtió de manera rápida en el género típico de las Enterobacteriáceas (WHO, 2015a). *Escherichia coli* patógena es una bacteria que se encuentra

involucrada en la mayoría de enfermedades infecciosas que afectan al ser humano, actualmente es la bacteria que se muestra recurrente en los diversos casos infecciosos que aquejan a la población, además de ser la bacteria con mayor índice de recuperación en las muestras clínicas (WHO, 2015b; Koneman et al., 2008) .

*E. coli* es la enterobacteria más importante ya que es la que se halla con más frecuencia en el tracto digestivo y la más descrita como causa de patología en los seres humanos. Se trata de una enterobacteria móvil, catalasa positiva, oxidasa negativa, reduce el nitrato a nitrito, normalmente fermenta la lactosa, produce indol a partir del triptófano siendo negativa la reacción de Voges-Proskauer, ureasa y fenilalanina desaminasa (Mandell, Bennett et al., 2005).

#### **1. 4.2.1. Características**

*Escherichia coli* es un bacilo Gram (-), aerobio y considerado como anaerobio facultativo, con flagelos peritricos; es parte de la flora bacteriana intestinal de los seres humanos y de algunos animales de sangre caliente, ya que es una bacteria mesófila; por ende, es sensible a temperaturas inferiores a los 7°C y superiores de los 70°C. Posee una sola cadena espiral de ADN, con una carga genética de 5 000 genes (Koneman, 2008; Agurto, 2009).

#### **1.4.2.2.. Estructura**

Al ser una bacteria Gram (-) posee estructuras típicas como la cubierta que consta de 3 elementos básicos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y el espacio periplasmático constituido por peptidoglucano, la cual le brinda forma y rigidez, además de permitir la resistencia a situaciones adversas. Inclusive se pueden hallar fimbrias y estructuras relacionadas a la patogenicidad de la bacteria (Agurto, 2009; Murray, 2009; Mandell, Bennett et al., 2005).

#### **1.4.2.3.. Factores de virulencia**

Son todas las estructuras o productos bacterianos que intervienen en el proceso infeccioso. Las enterobacterias poseen una serie de factores de virulencia implicados en la producción de los diferentes síndromes clínicos, por una parte Introducción 8 poseen fimbrias y adhesinas imprescindibles para adherirse a las mucosas, siendo este el primer paso para la colonización bacteriana, por otra parte producen toxinas como la endotoxina o lipopolisacárido de la pared y otras: hemolisina, citotoxinas y por ultimo poseen plásmidos que son unidades de ADN extracromosómicos, intracitoplasmáticos, con capacidad de autorreplicación y que juegan un papel fundamental en la codificación de

información para su acción patógena (islas de patogenicidad) así como para la resistencia a los antibióticos (Mandell, Bennett et al., 2005)

### **1.4.3. INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO**

Entendemos por infección la entrada, establecimiento y multiplicación de microorganismos en el interior o en la superficie de un huésped, existiendo distintos grados de relación entre el huésped y el microorganismo: colonización, infección inaparente y enfermedad infecciosa. (Andréu, Alos et al., 2005) La infección del tracto urinario (ITU) se caracteriza por la presencia de microorganismos en el tracto urinario a cualquier nivel, desde el extremo distal de la uretra hasta el corte renal (uretra, vejiga, próstata, uréteres, pelvis renal o riñones), englobando diferentes entidades clínicas que requieren su catalogación mediante la correlación clínica-laboratorio.

*E. coli* accede al sistema genitourinario a través del periné desde el tubo digestivo, fundamentalmente en las mujeres por presentar una uretra más corta. La vía urinaria es el origen de la mayoría de las bacteriemias y su posterior diseminación a otros tejidos. El término infección urinaria incluye distintos síndromes como pielonefritis aguda y crónica, cistitis y síndrome uretral agudo, los cuales afectan a diversas estructuras de las vías urinarias, presentando diferencias en relación a la clínica y gravedad del cuadro que producen. Las infecciones del tracto urinario son, dentro de las infecciones bacterianas, de las más frecuentes en el hombre, siendo los bacilos gram-

negativos el grupo taxonómico más frecuentemente aislado, predominando *Escherichia coli* como agente causal. De hecho, la infección de las vías genitourinarias ocupa el segundo lugar en frecuencia, después de las infecciones del aparato respiratorio. Esta incidencia junto a su morbilidad (pielonefritis crónica, insuficiencia renal) y mortalidad (foco de bacteriemia y sepsis), representan un importante reto a la hora de establecer su diagnóstico y tratamiento. Las infecciones del tracto urinario son de gran importancia por su prevalencia. Aproximadamente el 20% de las mujeres desarrollan una infección urinaria a lo largo de su vida; es la infección nosocomial más frecuente en España y ocupa el segundo lugar de las infecciones atendidas por equipos de Atención Primaria. Más del 95% de las ITU son monobacterianas. Siendo *E. coli* el microorganismo más frecuentemente implicado en la infección aguda y en infecciones producidas en pacientes ambulatorios. Sin embargo en el caso de infecciones recurrentes, especialmente en presencia de anormalidades estructurales del aparato urinario, como son anomalías congénitas, vejiga neurogénica y obstrucciones del aparato urinario, las especies implicadas son *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, y *Enterobacter* seguido de *Enterococos* y *Staphylococos*. En este último caso son más frecuentes las infecciones polimicrobianas y los microorganismos suelen ser más resistentes debido a que estos pacientes suelen ser tratados con varios ciclos de antibiótico. Asimismo, estas especies son más frecuentes en el ambiente hospitalario.

Otros agentes implicados en las ITU son *Corynebacterium urealyticum*, que ha sido reconocido como un importante patógeno nosocomial, microorganismos anaerobios, levaduras del género *Cándida* y *Staphylococcus saprophyticus* que se asocia a ITU en mujeres jóvenes sexualmente activas. También se ha implicado en ITU a los géneros *Gardnerella*, *Ureaplasma* y *Mycoplasma*. Por ultimo asociadas a cálculo renales, aparecen infecciones producidas por nanobacterias. (Mandell, JE et al., 2005) La distribución epidemiológica no es uniforme, variando su incidencia en función de la edad y el sexo. En lactantes menores de 3 meses predomina en varones y posteriormente es más frecuente en niñas. En la edad adulta, existe una mayor prevalencia en la mujer coincidiendo con el inicio de las relaciones sexuales. En la vejez la incidencia de ITU aumenta en ambos sexos, aunque de manera más marcada en varones. (Mandell, JE et al., 2005) Para realizar un diagnóstico correcto se debe recurrir al análisis microbiológico, ya que los signos y síntomas que pueden aparecer acompañando a la infección del tracto urinario no poseen la suficiente especificidad. Las infecciones del tracto urinario se dividen en infecciones de vías altas y bajas. Describiéndose cuatro síndromes principalmente: uretritis, cistitis, prostatitis y pielonefritis En las infecciones urinarias de vías bajas, se incluyen: 1. La cistitis, infección superficial de la mucosa vesical, caracterizada por la presencia del síndrome miccional: disuria (escozor), polaquiuria (aumento de la frecuencia, aunque no del volumen

total) y tenesmo (micción urgente), a menudo acompañados de dolor suprapúbico, orina maloliente y en ocasiones puede aparecer hematuria. 2. La uretritis, inflamación de la uretra, generalmente causada por infecciones de transmisión sexual. 3. La prostatitis, inflamación de la próstata, aguda o crónica

4. La epididimitis, inflamación del epidídimo, generalmente secundaria a prostatitis. 5. En las infecciones urinarias de vías altas, se incluyen los síndromes debidos a inflamación del parénquima renal (pielonefritis aguda o crónica) y los procesos supurativos locales (absceso renal). La presencia de fiebre, dolor lumbar o puño percusión positiva indican infección del riñón. Una clasificación de las ITU de gran utilidad desde el punto de vista clínico es la que distingue entre complicadas y no complicadas: Las infecciones urinarias complicadas son las que se producen en pacientes con patología metabólica previa o con anomalía estructural o funcional del tracto urinario (la presencia de cálculos, obstrucción, anomalías anatómicas, vejiga neurógena o cuerpo extraño), el embarazo, la diabetes, el trasplante renal, la edad avanzada, la hospitalización, la hipertrofia prostática y diversas enfermedades metabólicas e inmunológicas también pueden hacer complicada una ITU. También se incluyen aquí las causadas por patógenos resistentes a antibióticos. (Mensa, 2008). Según opiniones, la única infección urinaria no complicada es la cistitis en la mujer sana no embarazada

Por último, cuando se producen de forma recurrente se pueden clasificar en recidivas y reinfecciones. Las recidivas representan el 20% de las recurrencias, la bacteriuria es debida al mismo germen que produjo la primera infección, y suele ocurrir entre una y dos semanas después de finalizar el tratamiento previo. Pueden ser debidas a la persistencia del microorganismo en el tracto urinario, a un tratamiento antibiótico inadecuado o demasiado corto, a la existencia de una anomalía genitourinaria o al acantonamiento de los gérmenes en un lugar inaccesible al antibiótico. Las reinfecciones, son más frecuentes que las recidivas, están producidas por una bacteria distinta y se producen meses después de la infección inicial. A veces pueden deberse al mismo microorganismo, que persiste en vagina o intestino.

En el diagnóstico de las ITU, hay que tener en cuenta cinco puntos fundamentales:

1. Diagnóstico clínico.
2. Diagnóstico de localización.
3. Valoración de la función renal.
4. Existencia o no de factores predisponentes a ITU (gestación, patología prostática, prolapso vesical, alteración del pH vaginal, manipulación e instrumentalización de la vía urinaria, hipertensión, diabetes).
5. Diagnóstico etiológico (aislamiento de uropatógeno)



El método de referencia para el diagnóstico etiológico de las infecciones del tracto urinario sigue siendo el cultivo cuantitativo de orina completado con el estudio del sedimento; de tal manera que el urocultivo es una prueba imprescindible para establecer el diagnóstico y tratamiento de una infección urinaria, pues permite aislar e identificar al agente causal de la misma y determinar la sensibilidad a los antimicrobianos. Los criterios más revelantes en la elección de un antibiótico para el tratamiento de las ITUs, que sea fácil para el cumplimiento terapéutico y que presente una eliminación urinaria elevada y mantenida (Andréu, Alos et al., 2005)

En las tablas 1 y 2 se relacionan los antibióticos que suelen considerarse como opciones de tratamiento según el tipo de ITU: (Mandell, et al., 2005) (Mensa, 2008)

Tabla 1.: En las infecciones de la vía urinaria superior.

<b>Pielonefritis aguda sin criterios de ingreso hospitalario</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefalosporina 3ª oral o im</li> <li>• Aminoglucósido im (dosis única diaria)</li> <li>• Fluoroquinolonas.</li> </ul>
<b>Pielonefritis aguda con criterios de ingreso hospitalario:</b>	

<b>a. Sin riesgo de infección por microorganismos resistentes y con estabilidad hemodinámica</b>	Cefalosporina 3ª, aztreonam, ertapenem • Aminoglucósido im o iv (dosis única diaria)
<b>b. con riesgo de infección por microorganismos resistentes y/o inestabilidad hemodinámica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carbapenemem (imipenem o meropenem)</li> <li>• Piperacilina/tazobactam</li> <li>• En caso de shock añadir un amino glucósido a cualquiera de las pautas mencionadas.</li> </ul>

Tabla 2.: En las infecciones de la vía urinaria inferior.

<b>Cistitis no complicada</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefalosporinas de 2ª o 3ª generación (3-5 días).</li> <li>• Fluoroquinolonas (3-5 días).</li> <li>• Amoxicilina/clavulánico (5 días).</li> <li>• Fosfomicina trometamol (Dosis única).</li> <li>• Nitrofurantoína (7 días).</li> </ul>
-------------------------------	---

<b>Cistitis complicada</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefalosporinas de 2ª o 3ª generación (7 días).</li> </ul>
<b>Recidivas en el varón</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fluoroquinolonas.</li> <li>• Trimetoprim-sulfametoxazol</li> </ul>
<b>Reinfecciones en la mujer posmenopáusica.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Profilaxis con dosis bajas de antibiótico o aplicación de cremas vaginales con estrógenos.</li> <li>• Si la recurrencia es sintomática y presenta relación con anomalía urológica que no se puede corregir se aconseja profilaxis antibiótica durante 6-12 meses. Fluoroquinolonas, Trimetoprim-sulfametoxazol, Nitrofurantoína.</li> </ul>
<b>Bacteriuria asintomático en embarazadas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Amoxicilina/clavulánico.</li> <li>• Cefalosporinas de 1ª generación.</li> <li>• Nitrofurantoína. • Fosfomicina</li> </ul>
<b>Profilaxis antibiótica en embarazadas.</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cefalexina.</li> <li>• Nitrofurantoína.</li> </ul>

#### **1.4.4. LOS ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS**

Los antibióticos betalactámicos constituyen el principal grupo de antibióticos y el más utilizado para el tratamiento de las infecciones humanas. En 1928 Fleming observó el efecto inhibidor del *Penicillium*, un hongo filamentoso, sobre el crecimiento de bacterias en una placa de cultivo, pero fue en la década de los 40 cuando se consigue la producción industrial de la penicilina gracias a los estudios de Florey y Chain. (Joklik, 1996) Estos antibióticos presentan como estructura básica el anillo betalactámico, formado por la condensación de alanina y beta-dimetilcisteína

##### **1.4.4.1.Mecanismo de acción**

Los antibióticos betalactámicos tienen acción bactericida, actúan impidiendo la síntesis de la pared bacteriana, inhibiendo la síntesis del peptidoglicano, que es el componente que confiere estabilidad y rigidez a la bacteria, protegiéndola de la rotura osmótica. Estos antibióticos se unen a lo que se denomina genéricamente como proteínas ligadoras de penicilinas (PBP), cuya función es catalizar una serie de reacciones de transpeptidación y carboxipeptidación necesarias para la síntesis del peptidoglicano de la pared bacteriana. Los betalactámicos actúan

también activando una autolisina bacteriana endógena que destruye el peptidoglicano. (Marín and Gudíol, 2003)

#### **1.4.4.2. Clasificación y estructura química**

Esta familia de antibióticos viene definida químicamente por la presencia de un anillo betalactámico, originándose cinco grandes grupos: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes, monobactams e inhibidores de las betalactamasas. (Marín and Gudíol, 2003).

#### **1.4.4.3. Estructura química de las Penicilinas**

Las penicilinas contienen un anillo betalactámico y un anillo de tiazolidina, formando el ácido 6-aminopenicilánico, el cual deriva de la condensación entre una molécula de valina y una de cisteína, dando lugar al doble anillo característico. Presentan una cadena lateral en la posición 6, que varía de unas penicilinas a otras y es la que define sus propiedades.

Según el espectro de acción las penicilinas se pueden dividir en cinco subgrupos:

- Las penicilinas de primera generación presentan actividad frente a bacterias gram-positivas no productoras de betalactamasas, bacterias anaerobias y algunos cocos gram-negativos (como el meningococo)

- Las penicilinas semisintéticas resistentes a penicilasas son el tratamiento de elección para las infecciones debidas a bacterias del género *Staphylococcus*.
- El espectro de acción de las aminopenicilinas es más amplio que el de las penicilinas de primera generación, actuando además frente a cocos gramnegativos, enterobacterias no productoras de betalactamasas y enterococos.
- Por último, las ureidopenicilinas y las carboxipenicilinas presentan buena actividad frente a bacilos gram-negativos aerobios incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*.
- Las de tercera generación son más activas frente a bacterias gramnegativas de adquisición nosocomial, como por ejemplo: cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona.
- Las de cuarta generación presentan buena actividad frente a bacterias gram-positivas, gram-negativas y *Pseudomonas*, como por ejemplo: Cefepima.

#### **1.4.4.4. Estructura química de los carbapenemes**

Su estructura básica consiste en la unión de un anillo betalactámico con un anillo pirrolidínico compartiendo un nitrógeno. Los carbapenemes son muy estables frente a betalactamasas de manera que dentro de los antibióticos betalactámicos son lo que presentan el espectro más amplio.

Los representantes de este grupo son imipenem, meropenem y ertapenem siendo activos frente a bacterias gram-positivas, gram-negativas y anaerobias. Imipenem es más activo frente a bacterias gram-positivas, mientras que ertapenem y meropenem presentan mayor actividad frente a bacterias gramnegativa aerobia. Cabe destacar la falta de actividad de ertapenem frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

#### **1.4.4.5. Estructura química de las Cefalosporinas**

La estructura de las cefalosporinas se origina de la unión de un anillo dihidrotiacínico y un anillo betalactámico; al igual que con las penicilinas, las modificaciones en la cadena lateral dan lugar a las diversas cefalosporinas. Las cefalosporinas se clasifican según su orden cronológico de aparición en cuatro generaciones: • Las de primera generación son las más activas frente a estafilococos no productores de betalactamasas, como por ejemplo: cefalotina, cefazolina, cefaclor. • Las de segunda generación amplían su espectro frente a bacterias gramnegativas de origen comunitario, como por ejemplo la cefuroxima, cefamandol y junto a ellas las cefamicinas como cefoxitina y cefminox más activas frente a los Bacteroides del grupo fragilis.

#### **1.4.4.6. Estructura química de los monobactames**

Los monobactámicos contienen solo el anillo betalactámico. Aztreonam es el único representante de este grupo, siendo activo frente a bacterias gram-negativas aerobias, incluyendo a *Pseudomonas aeruginosa* pero no frente a bacterias gram-positivas ni anaerobios.

#### **1.4.4.7. Estructura química de los inhibidores de las betalactamasas**

Dentro de los inhibidores de las betalactamasas con una estructura betalactámica se encuentran el sulbactam, el ácido clavulánico y el tazobactam. El sulbactam es una sulfona semisintética del ácido penicilánico. El tazobactam posee un grupo triazol en posición 3. El ácido clavulánico tiene un núcleo similar al ácido penicilánico de las penicilinas pero se sustituye el átomo de azufre por uno de oxígeno y carece de la cadena lateral acilamino en posición 6.

#### **1.4.5. ESPECTRO ANTIBACTERIANO**

Los betalactámicos son activos frente a bacterias gram-positivas, gramnegativas y espiroquetas. El espectro antimicrobiano de la penicilina G va desde los cocos gram-positivos y gram-negativos hasta bacilos gram-positivos, tanto facultativos como anaerobios, y algunos bacilos gram-negativos. La obtención de derivados semisintéticos del ácido 6-aminopenicilánico permitió disponer de preparados activos por vía oral, los cuales presentan mayor resistencia a las betalactamasas y mayor acción



sobre bacterias gram-negativas (aminopenicilinas, penicilinas anti-pseudomonas y penicilinas antiestafilocócicas). (Marín and Gudiol, 2003)

Mientras que las cefalosporinas de primera generación son muy activas frente a los cocos gram-positivos, las sucesivas generaciones son más activas frente a los bacilos gram-negativos. Los carbapenémicos son dentro del los betalactámicos los que presentan mayor espectro. El aztreonam posee una muy buena actividad frente a bacterias gram-negativas aerobias y facultativas, pero carece de actividad frente a gram-positivos y anaerobios. Por último, los inhibidores de las betalactamasas, presentan una elevada afinidad frente a las betalactamasas a las que se unen de manera irreversible protegiendo de esta manera a los betalactámicos de su acción. Aisladamente poseen poca actividad antibacteriana, se utilizan asociados a otro betalactámico, siendo su función fundamental permitir a éste recuperar su actividad sobre microorganismos que se han hecho resistentes por producción de betalactamasas. (Marín and Gudiol, 2003)

#### **1.4.6. MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA**

Las bacterias a lo largo del tiempo han producido una amplia variedad de mecanismos de resistencia, con el fin de contrarrestar el efecto de los antibióticos. La eficacia de los antibióticos betalactámicos está en continuo reto debido a la emergencia de cepas bacterianas resistentes. (Frere, 1995)

Entendemos por resistencia bacteriana la condición microbiológica

caracterizada por la capacidad natural o adquirida por parte de una cepa bacteriana de permanecer refractaria a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un antibiótico. (Bush, Jacoby et al., 1995). La resistencia puede estar mediada por genes cromosómicos o material extracromosómico (DNA plasmídico). La resistencia cromosómica aparece por mutación, por el contrario los plásmidos y transposones pueden ser autotransferibles entre bacterias. La transferencia de este material genético se realiza a través de diversos mecanismos como son la transformación, conjugación y transducción. (Marín and Gudiol, 2003) La resistencia de los bacilos gram-negativos a los antibióticos betalactámicos puede ser debida a varios mecanismos, que en ocasiones se asocian:

1. Alteraciones de la permeabilidad: La membrana externa en las bacterias gram-negativas dificulta el paso de sustancias hidrofílicas, como los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, los cuales necesitan los poros proteicos (porinas) para tal fin. Generalmente por mutaciones que afectan a las porinas, se produce una disminución de la concentración del antibiótico en el interior de la célula. (Marín and Gudiol, 2003)
2. Producción de enzimas: Hidrólisis del antibiótico por las betalactamasas, la producción de betalactamasas es el mecanismo de resistencia más importante frente a los antibióticos betalactámicos. (Cantón, Novais et al., 2008) Son enzimas de naturaleza proteica cuya síntesis está controlada por un gen, bien cromosómico o bien transferido por plásmidos. Las

betalactamasas se unen al grupo carboxilo y rompen el enlace amídico del anillo betalactámico lo cual hace que se pierda la capacidad de unión a las PBP. En las bacterias gram-negativas estas enzimas se encuentran en el espacio periplásmico y atacan al antibiótico antes de que este alcance su receptor. (Gupta, 2007) Su producción puede ser constitutiva (se producen siempre) o inducible (sólo en presencia de un betalactámico). (Bush, 1988) La producción de betalactamasas cromosómicas puede ser constitutiva (se producen siempre) o inducible (se producen sólo en presencia de un betalactámico). Las betalactamasas plasmídicas en los bacilos gram-negativos son constitutivas y su grado de producción esta en relación con el número de copias del plásmido. (Marín and Gudíol, 2003) Las modificaciones en la estructura de la enzima por sustitución de aminoácidos presenta una fuerte correlación con cambios en su función; (Du Bois, Marriott et al., 1995) asimismo, estudios cristalográficos demuestran que la estructura de algunas betalactamasas presenta una gran similitud con las PBP. (Frere, 1995)

3. Alteraciones en el lugar de acción Como los betalactámicos deben unirse a las PBP para ejercer su acción cualquier alteración a este nivel reduce la afinidad del antibiótico por su diana.
4. Expresión de bombas de eliminación activa: Son bombas de flujo que bombean al antimicrobiano al exterior. Como ya hemos comentado, el mecanismo de resistencia más frecuente es la producción de

betalactamasas tanto de codificación cromosómica como plasmídica. Este problema, en un principio, fue solventado clínicamente por la introducción de nuevos betalactámicos con cadenas laterales que protegiesen el anillo betalactámico: cefamicinas, cefalosporinas de tercera generación y monobactames por la utilización de combinaciones de los betalactámicos existentes con los nuevos inhibidores de betalactamasas. Pero las bacterias rápidamente adquirieron resistencia a estos antibióticos por los siguientes mecanismos:

- Algunas especies por hiperproducción de enzimas, cefalosporinasas inducibles de clase C, que además, pueden dar lugar a mutantes con desrepresión estable de su síntesis.
  - Hiperproducción de betalactamasas clásicas.
  - Aparición de nuevas betalactamasas, codificadas por plásmidos, mutantes de las tipo TEM y SHV, ahora capaces de hidrolizar las cefalosporinas de tercera y cuarta generación: BLEE
  - Producción de cefamicinasas mediada por plásmidos.
  - Producción de betalactamasas resistentes a la acción de los inhibidores:
- IRT El mecanismo de resistencia a los inhibidores de betalactamasas y sus combinaciones comerciales (amoxicilina-clavulánico, ampicilina-sulbactam, ticarcilina-clavulánico, cefoperazona-sulbactam y

piperacilina-tazobactam) (Bush, 1988) que son resistentes a la acción de los inhibidores. (Livermore, 1995).

#### **1.4.7. BETALACTAMASAS**

##### **1.4.7.1. Generalidades**

Las betalactamasas o penicilin amido-beta-lactamhidrolasas (EC 3.5.2.6) han sido definidas por el Nomenclature Committee of the Internacional Unión of Biochemistry como “enzimas que hidrolizan amidas, amiditas y otras uniones C-N” (Feb 1993) Estas enzimas están ampliamente distribuidas en bacterias tanto grampositivas como gram-negativas, constituyendo el mecanismo más común de resistencia en contra de los antibióticos betalactámicos (Ambler, 1980; Collatz, Labia, et al., 1990)

Las betalactamasas son la mayor defensa de las bacterias gram-negativas frente a los antibióticos betalactámicos. Son enzimas responsables de la mayor parte de los fracasos terapéuticos debido a que hidrolizan el anillo betalactámico inactivándolo (Bush, 1989).

En las bacterias gram-negativas, las betalactamasas plasmídicas son constitutivas y su grado de producción está en relación con el número de copias del plásmido, mientras que las betalactamasas

cromosómicas, pueden ser constitutivas o inducibles (Jacoby and Muñoz-Price, 2005; Marín and Gudiol, 2003)

#### **1.4.7.2. Clasificación de las betalactamasas**

Tanto la clasificación como la nomenclatura de las betalactamasas constituyen un problema, debido a que cuando se introducía en la práctica clínica un nuevo antibiótico betalactámico aparecía, prácticamente al tiempo, una nueva betalactamasa que lo hidrolizaba, de manera que ha aumentado enormemente su número lo que requería y requiere nuevas clasificaciones y constantes actualizaciones (Bush, 1989).

Es por ello que hayan sido propuestos numerosos esquemas de clasificación de estas enzimas. El primero de ellos fue clasificarlas en penicilinasas y cefalosporinasas que hidrolizan penicilinas y cefalosporinas respectivamente. Más adelante, estas enzimas han sido clasificadas de acuerdo a su perfil de sustrato, punto isoelectrico, peso molecular, reacción con los inhibidores y otros criterios bioquímicos, así como por su origen cromosómico o plasmídico. (Heritage, M'Zali et al., 1999; Jaurin and Grundstrom, 1981; Medeiros, Cohenford et al., 1985)

#### **1.4.8. PRODUCCIÓN DE BETALACTAMASAS**

Los genes que codifican estas enzimas pueden encontrarse en el cromosoma de la bacteria o en segmentos de DNA extracromosómico, denominados plásmidos los cuales son los responsables de la diseminación de la mayor parte de las betalactamasas. Los genes que codifican algunas betalactamasas son transportados por transposones y muchos genes son encontrados en integrones, los cuales a menudo incluyen genes que confieren resistencia a otros antibióticos. (Jacoby and Muñoz-Price 2005). Las principales betalactamasas responsables de la resistencia en los bacilos gram-negativos son la betalactamasa inducible AmpC (clase C) y las betalactamasas plasmídicas de amplio espectro y de espectro extendido (BLEE-clase A). (Levison, 2002)

#### **1.4.9. BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO**

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas que hidrolizan a las cefalosporinas de espectro extendido que contienen una cadena lateral Introducción 39 oximino; entre las que están incluidas la ceftazidima, ceftriaxona, cefotaxima y también el aztreonam. No actúan sobre cefamicinas ni carbapenemes. Son inhibidas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de betalactamasas como el sulbactam o

tazobactam. (Patterson, 2003). Las BLEE han emergido en las dos últimas décadas como un problema creciente que dificulta el tratamiento de infecciones producidas por las bacterias portadoras. (Gobernado, 2005) Su aparición se asocia al uso excesivo de las cefalosporinas de amplio espectro y el aztreonam. Fue en los años 80 cuando se introdujeron en la práctica clínica las cefalosporinas de tercera generación, estas cefalosporinas fueron desarrolladas en respuesta a un incremento en la prevalencia de betalactamasas en algunos microorganismos y a la extensión de estas a nuevos hospedadores. Estas cefalosporinas presentan menor nefrotoxicidad que los aminoglucósidos y las polimixinas, de ahí que se usaran más. Son enzimas de configuración plasmídica producidas por bacilos gramnegativos, principalmente enterobacterias, en concreto *E.coli* y *Klebsiella pneumoniae*, pero también pueden aparecer en bacilos no fermentadores y otras enterobacterias. Derivan de las betalactamasas de amplio espectro (TEM-1, TEM-2, SHV-1), pertenecientes al grupo 2b de la clasificación de Bush, Jacoby y Medeiros; cuando estas sufren mutaciones (el hecho de que se produzca un cambio de uno o mas aminoácidos implica una apertura del sitio activo del enzima permitiendo un mayor acoplamiento de la gran cadena lateral del betalactámico) en el centro activo dan lugar a estas otras betalactamasas de espectro extendido, que hidrolizan a las cefalosporinas de tercera generación y a los monobactámicos, clasificándose en el subgrupo 2be (clase molecular A);



No todas las BLEE pertenecen al grupo 2be, ya que algunas oxacilinasas, que pertenecen al grupo 2d (clase molecular D), son BLEE. (Philippon, Labia et al., 1989; Patterson, 2003) Fue en 1983 en Alemania cuando se aisló por primera vez una BLEE, en una cepa Introducción 40 de *Klebsiella ozaenae*, la cual recibió el nombre de SHV-2. En España la primera BLEE se describió en 1988, detectándose poco después los primeros brotes. (Knothe, Shah et al., 1983) A parte de las TEM y SHV en 1989 se describió otro tipo de BLEE las cefotaximasas o CTX-M, derivan de betalactamasas cromosómicas de especies del género *Kluyvera*, pertenecen a la clase molecular A y son resistentes a cefotaxima, cefuroxima cefepima y en menor medida a ceftazidima. (Walther-Rasmussen and Hoiby, 2004)

#### **1.4.10. RESISTENCIAS ASOCIADAS**

La resistencia a los antibióticos es una de las causas de mayor preocupación en los ámbitos clínicos debido a tres importantes aspectos: la aparición de resistencia a los nuevos antimicrobianos; la presencia de genes plasmídicos que codifican resistencia y pueden ser fácilmente transferidos entre especies; y el aumento de resistencias no solo en el ambiente hospitalario sino además en la comunidad (Wiener, Quinn et al., 1999); la aparición de las BLEE constituye un problema adicional de resistencia a los antimicrobianos durante las dos últimas décadas. El aumento de BLEE producidas por enterobacterias en estos últimos años

ha generado la necesidad de reevaluar la terapia de estas infecciones. El tratamiento de las infecciones urinarias debidas a cepas productoras de BLEE presenta grandes dificultades ya que estas cepas son multirresistentes, limitando por tanto las alternativas. Son resistentes a todos los betalactámicos y un 30% a 60% de ellas también a las asociaciones de betalactámico/inhibidor de betalactamasa. Son sensibles a cefamicinas, carbapenémicos. (Gobernador 2005) (Garau, 2008) Los genes que codifican las BLEE están normalmente localizados en plásmidos conjugativos (bla-TEM y bla-SHV), mientras que otros se encuentran frecuentemente dentro de integrones como bla-CTX-M, bla-GES, bla-VEB-1 lo que facilita su diseminación. (Machado, Cantón et al. 2005) La corresponsencia de las cepas productoras de BLEE con antimicrobianos de otras familias y la coexistencia de mecanismos adicionales de resistencia en estas cepas supone un grave problema terapéutico.

En relación a la coexistencia con otros mecanismos de resistencia destacaríamos los siguientes:

- Alteraciones de la permeabilidad y resistencia a betalactámicos Las cefamicinas (cefotaxima, cefotetan...) no son hidrolizadas por las BLEE, por lo que podrían constituir una opción para el tratamiento de las infecciones producidas por cepas productoras de BLEE. (Paterson and Bonomo 2005). Pero otros autores observan que la pérdida o modificación

de las porinas en cepas productoras de BLEE causan resistencia a cefoxitina. En el caso de los carbapenemas estos son activos frente a cepas productoras de BLEE e incluso cuando también existe pérdida de porinas, aunque en la actualidad se han encontrado cepas con CMIs elevadas para meropenem.

- Hiperproducción de betalactamasas de amplio espectro (TEM-1) y otras betalactamasas (como AmpC) asociadas a alteraciones en la permeabilidad puede producir resistencia a inhibidores como amoxicilina/clavulánico.

En relación a la corresponsencia con otros grupos de antimicrobianos, numerosos trabajos demuestran que las cepas productoras de BLEE son más resistentes a quinolonas, amino glucósidos y cotrimoxazol que las cepas no productoras.

- Resistencia a quinolonas Múltiples estudios demuestran que las cepas productoras de BLEE son más resistentes a quinolonas, lo cual puede ser debido a mecanismos de tipo cromosómico (alteración en la diana del fármaco, superproducción de bombas de expulsión activas y pérdida de porinas) y producción de proteínas mediadas por plásmidos de la familia Qnr (QnrA, QnrB, QnrS)

## **1.5. Hipótesis**

$H_0$  = No existe relación alguna entre la multirresistencia y factores asociados con la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018

$H_1$  = Se logrará determinar la multirresistencia y los factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018

## 1.6.Objetivos

### Objetivo general:

- Determinar la multirresistencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos.

### Objetivos Específicos:

- Aislar las cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos.
- Determinar la multirresistencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas de urocultivos.
- Determinar los factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos.

## **II. METODOLOGÍA**

### **2.1 Tipo y diseño de investigación**

#### **2.1.1 Tipo**

La investigación será de tipo cualicuantitativo, longitudinal, experimental, in vitro.

#### **2.1.2 Diseño**

Este diseño experimental utilizó la técnica estadística que permitió identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental pre clínico in vitro. En este diseño se manipuló deliberadamente una o más variables, vinculadas al efecto multidrogorresistente a betalactamasas.

## **2.2 Población y muestra**

### **2.2.1 Población**

- Cultivos de *Escherichia coli* aislados de urocultivos de pacientes atendidos en la Clínica Salud Primavera Chimbote, durante el periodo de abril - julio 2018.

### **2.2.2 Muestra**

- Se utilizaron 100 urocultivos de pacientes atendidos en la Clínica Salud Primavera Chimbote, durante el periodo de abril - julio 2018 de los cuales 40 correspondían a *Escherichia coli*.

## **2.3. Técnicas e instrumentos de investigación:**

### **2.3.1. Colecta de la muestra.**

Se realizó un muestreo consecutivo a conveniencia de los aislamientos provenientes de muestras de orina 100 pacientes que se atendieron en la clínica Salud Primavera Chimbote en el periodo de abril-julio 2018 y que tenían diagnóstico de ITU, todas de pacientes diferentes, se seleccionó una colonia con morfología compatible a *E. coli* que creció en Agar McConkey.

Posteriormente, cada enterobacteria fue identificada según los procedimientos habituales. Finalmente fueron sembradas en tubos de vidrio (13 x 100 mm) con Agar Tripticasa Soya.

### **2.3.2. Cuidado y transporte de la muestra**

Las muestras recolectadas, fueron colocadas en cajas térmicas convenientemente acondicionadas para facilitar el transporte y evitar la ruptura de material, manteniéndose en el Laboratorio del Centro Salud Primavera.

### **2.3.3. Determinación de cultivos productores de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)**

#### **2.3.3.1. Test de Tamizaje: Método de disco difusión (Kirby–Bauer)**

A partir de un cultivo puro de *Escherichia coli*, incubado por 18 a 24 horas se realizó una suspensión en solución salina fisiológica ajustado al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión y se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Luego se inoculó la superficie seca de la placa con agar Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo y se dejó secar durante 3 a 5 minutos. Se colocó los discos con

antibiótico con carga estándar de 30 µg de Aztreonam (ATM), Ceftriaxona (CRO), Ceftazidima (CAZ), Cefotaxima (CTX), y las placas fueron incubadas a 35 °C por 16 a 18 horas.

Se utilizó como criterios de sospecha los diámetros de inhibición:  $ATM \leq 27\text{mm}$ ,  $CRO \leq 25\text{ mm}$ ,  $CAZ \leq 22\text{ mm}$ ,  $CTX \leq 27\text{mm}$ . La cepa estudiada presentó halos de inhibición, para al menos uno de estos antibióticos, iguales o inferiores a los diámetros referidos, por lo tanto se realizó un test confirmatorio de la presencia de betalactamasas de espectro extendido.

#### **2.3.3.2. Test confirmatorio BLEE - Método de Jarlier (Comité de Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología)**

Se utilizará discos habituales de Ceftazidima (30 µg), Cefotaxima (30 µg), Aztreonam (30 µg) y Ceftriaxona (30 µg) y Amoxicilina/Acido Clavulánico (20/10 µg).

Se realizó una suspensión del microorganismo sospechoso, en solución salina fisiológica ajustada al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Con un hisopo estéril, se inoculó la suspensión sobre la superficie de la placa de agar Muller Hinton y se dejó secar de 3 a 5 minutos. Luego se colocó un disco de Amoxicilina/Ácido Clavulánico en el centro de la placa y alrededor, a 30 mm de distancia, los discos de Ceftazidima, Aztreonam, Cefotaxima y Ceftriaxona. Las placas se incubaron a 35°C por 16 a 18 horas.

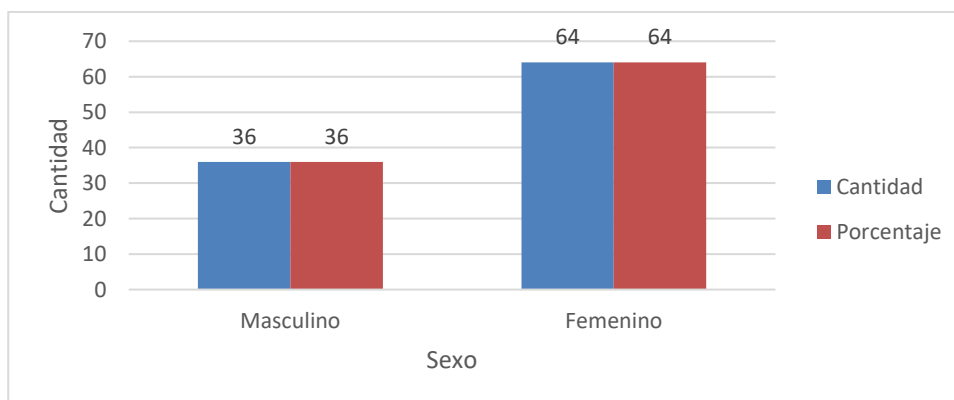


Se evidenció imágenes de sinergia entre el disco Amoxicilina/Ácido Clavulánico y los discos de Ceftazidima y/o Aztreonam y/o Cefotaxima y/o Ceftriaxona, considerarándose el test como positivo en algunos casos.

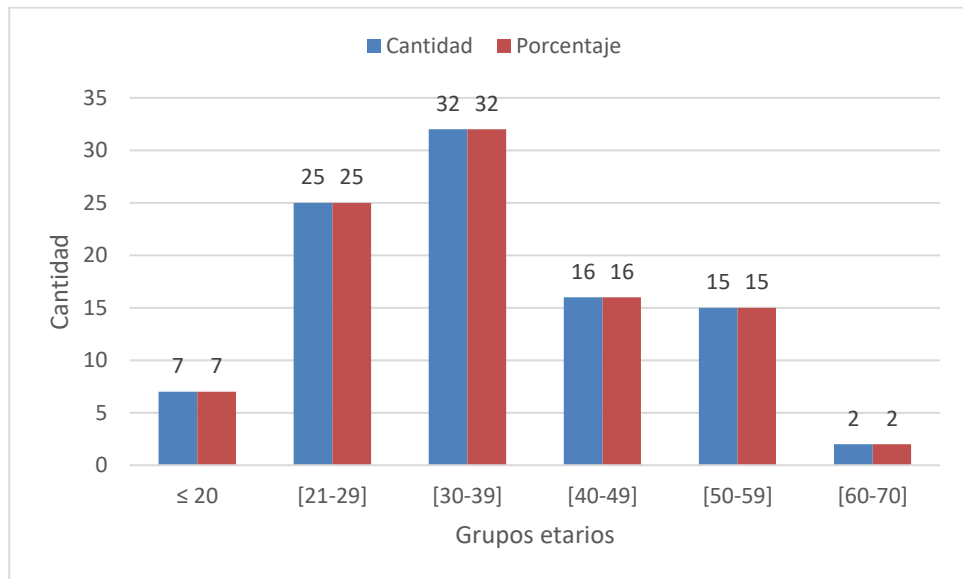
#### 2.4. Procesamiento y análisis de la información

Los datos serán presentados en tablas, según el porcentaje de cultivos que produzcan betalactamasas de espectro extendido, además serán sometidos a modelos estadísticos, tales como Frecuencia, Análisis de Varianza y la Prueba Chi-Cuadrado ( $X^2$ ) de Pearson, con un nivel de significancia de 95% ( $\alpha=0.05$ ).

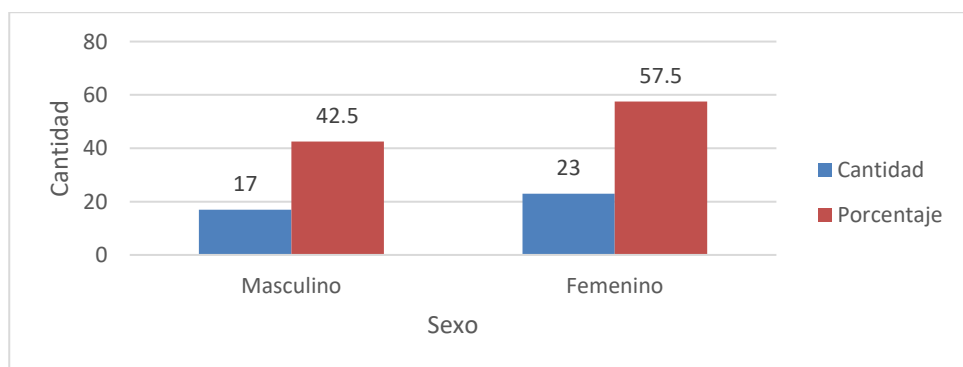
### III. RESULTADOS



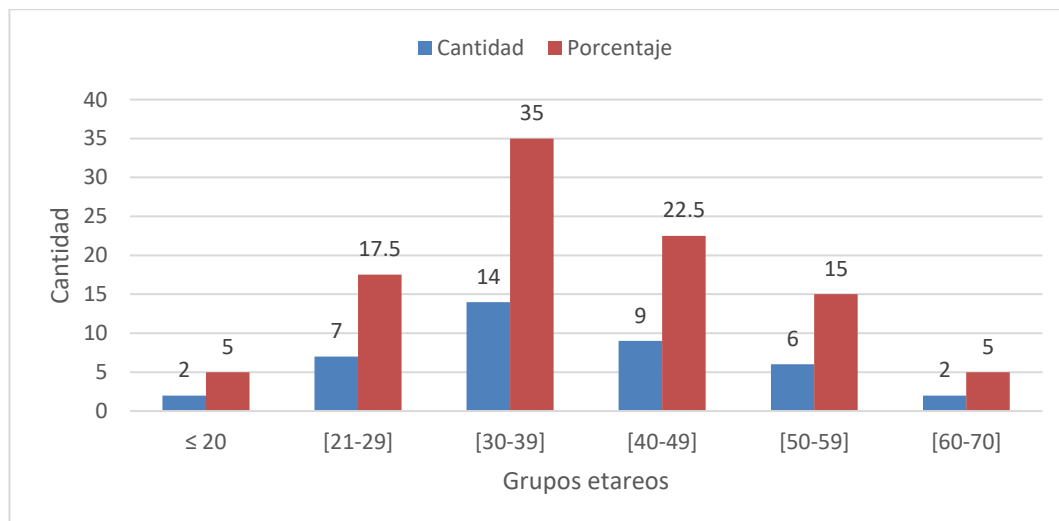
**Figura 1. Sexo de los pacientes atendidos en la clínica Salud primavera durante los meses de abril a julio 2018, a quienes se les tomó una muestra de urocultivo para evaluar la presencia de *Escherichia coli***



**Figura 2. Edad de los pacientes atendidos en la clínica Salud primavera durante los meses abril a julio 2018, a quienes se les tomó una muestra de urocultivo para evaluar la presencia de *Escherichia coli***



**Figura 3. Sexo de los pacientes atendidos en la clínica Salud primavera durante los meses de abril a julio 2018, a quienes se les tomó una muestra de urocultivo y se confirmó la presencia de *Escherichia coli***



**Figura 4. Edad de los pacientes atendidos en la clínica Salud primavera durante los meses de abril a julio 2018, a quienes se les tomó una muestra de urocultivo y se confirmó la presencia de *Escherichia coli***

**Tabla 1. Halos de inhibición (mm) obtenidos al evaluar la multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018.**

N°	Aztreonam	Ceftriaxona	Ceftazidima	Cefotaxima	MDR
1	24*	15*	19*	22*	**
2	38	20*	6*	20*	**
3	8*	6*	6*	14*	**
4	38	27	21*	22*	
5	38	29	26	26*	
6	9*	6*	6*	11*	**
7	27*	29	23	15*	
8	10*	8*	6*	13*	**
9	33	30	24	30	
10	30	31	25	28	
11	34	25*	21*	27*	**
12	38	12*	11*	25*	**
13	31	34	22*	28	
14	22*	15*	17*	21*	**
15	33	30	27	24*	
16	19*	12*	27	35	
17	29	27*	27	22*	
18	21*	13*	22*	24*	**
19	29	28	26	27*	
20	25*	26	24	25*	
21	27*	30	24	29	
22	23*	25*	24	25*	**
23	25*	27	25	27*	
24	6*	12*	10*	15*	**
25	31	32	27	30	
26	27*	31	26	27*	
27	31	31	28	31	
28	30	24*	27	30	
29	33	31	29	31	
30	25*	23*	24	25*	**
31	28	34	25	36	
32	17*	8*	18*	7*	**
33	40	35	28	27*	
34	32	35	30	35	
35	28	27	26*	35	
36	27*	37	34	38	

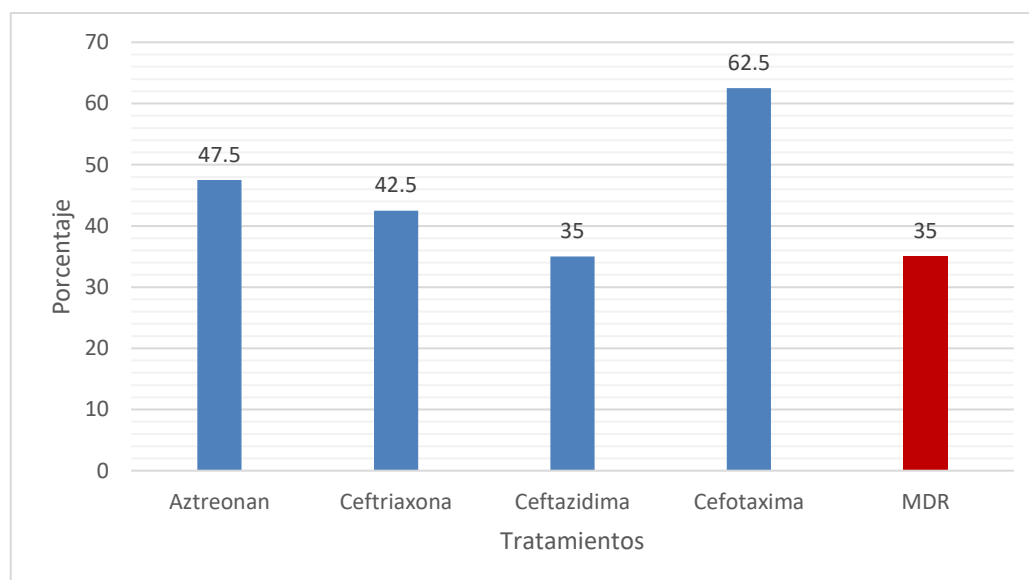
37	37	32	32	35	
38	24*	14*	24	12*	**
39	35	32	30	32	
40	25*	26	27	24*	
Resistencia	$\leq 27$ mm	$\leq 25$ mm	$\leq 22$ mm	$\leq 27$ mm	

Dónde: BLEE =Betalactamasa de espectro extendido, (\*) = Resistencia BLEE ,  
 (\*\*) = MDR= Multidrogorresistente

**Tabla 2. Intervalo de confianza de una proporción de los datos obtenidos al evaluar la multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018.**

n°	tratamientos	n	x	p	Porcentaje	Límite inferior	Límite superior
1	Aztreonan	40	19	0.475	47.5	0.27	0.68
2	Ceftriaxona	40	17	0.425	42.5	0.22	0.43
3	Ceftazidima	40	14	0.35	35	0.16	0.35
4	Cefotaxima	40	25	0.625	62.5	0.43	0.63
5	<b>MDR</b>	40	14	0.35	35	0.16	0.35

$\leq p \leq$



**Figura 5. Porcentaje de resistencia antibacteriana y multirresistencia asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018.**

#### **IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN**

El presente estudio fue de tipo transversal ya que fue realizado durante el periodo de abril – julio 2018 en la clínica de Salud primavera, ubicado en la ciudad de Chimbote. Se utilizaron urocultivos y para determinar cepas de *E. coli* de tanto de pacientes pediátricos y adultos.

Se empleó la técnica de difusión de disco de Kirby-Bauer bajo los lineamientos de las guías del *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2013). Los antibióticos empleados fueron: Ceftazidima, aztreonam, cefotaxima, ceftriaxona, y como estándar amoxicilina/ácido Clavulánico

El protocolo del estudio no se requirió consentimiento informado debido a que solo se revisaron las historias clínicas y se analizaron las cepas aisladas, prescindiendo de identificadores personales. La determinación de la presencia del fenotipo BLEE se hizo en el Laboratorio de la clínica.

Se definió como resistencia a, al menos, un antibiótico de tres o más categorías de antibióticos, determinadas por la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (Magiorakos et al., 2012).

Se realizó un análisis estableciendo las características demográficas y clínicas relacionadas a resistencia antibiótica. Se analizaron un total de 07 factores de riesgo para infección urinaria.

Las variables utilizadas fueron las siguientes: edad, sexo, incontinencia urinaria, litiasis renal, uso de antibiótico en los últimos tres meses, ITU en el último año e ITU severa.

En la figura 1, se encontró que de 100 muestras de orina iniciales, se encontraron que 40 correspondían a cepas de *E. coli*, el 40% (40/100), y de las 40 cepas utilizadas en este estudio, la mayoría provinieron de pacientes adultos entre 30-39 años (35%), el 57,5% (23/40) de sexo femenino. La resistencia antibiótica encontrada fue aztreonam 47,5 (19/40), ceftriaxona 42,5% (17/40), ceftazidima 35% (14/40), cefotaxima 62,5% (25/40) (Figura 1, tabla 2).

La recolección de datos asociados a la infección mostró que 70% (28 /40) pacientes tenían una infección urinaria severa, así mismo 35% (14/40) de cepas fueron catalogadas como multirresistentes (MDR).

Los betalactámicos son antibióticos de primera línea en el tratamiento de la ITU por *E. coli* en muchos países, incluyendo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) (Gupta et al., 2011).

El presente estudio halló frecuencia elevadas de resistencia antibiótica, de las cuales las menores frecuencias de resistencia en la población pediátrica, pueden atribuirse a

una menor frecuencia de enfermedades crónicas, institucionalización, inmunosupresión y tratamiento antibiótico previo, asociados al desarrollo de resistencia antibiótica.

Se encontró que 62.5% de resistencia a la cefotaxima, 42,5% a ceftriaxona, 47,5% a aztreonam y 35% a ceftazidima, debido a su uso como tratamiento de primera línea (Ministerio de salud, 2015).

Estudios de multirresistencia en la región de las Américas reportan hasta un 95% de resistencia en cepas *E. coli* uropatógenas a, al menos, un antibiótico y 42% de multirresistencia (Oliveira et al., 2011), asociada con el uso previo de antibióticos, antecedente de hospitalización y cirugía (Castillo et al., 2017 ).

El estudio de patrones de resistencia antibiótica es una herramienta útil para guiar el tratamiento empírico de una infección. Al encontrarse frente a una cepa productora de BLEE debemos considerar las características propias de la infección, los factores asociados a esta y los reportes locales de resistencia. Cabe mencionar que el acceso a antibióticos sin prescripción médica en Perú es también un factor mayor, que contribuye al desarrollo de resistencia antibiótica; para lo cual será necesario implementar programas integrales de vigilancia y control epidemiológico, con la participación informada del profesional de salud.

El aumento de la resistencia antibiótica en el ámbito comunitario es un problema de salud pública que requiere mayores estudios. Actualmente se encuentra en



investigación el rol epidemiológico de cepas comensales de *E. coli* como reservorios de genes productores de betalactamasas (Riveros et al., 2017).

Es necesario la implementación de programas de prevención de infecciones, así como identificar factores de riesgo en la población, priorizando el tratamiento empírico en pacientes de alto riesgo, con el objetivo de disminuir la transmisión y reducir los costos en el manejo del paciente infectado por bacterias multirresistentes (Tansarly et al., 2013).

## **V. CONCLUSIONES**

- Se logró aislar 40 cepas de *Escherichia coli* a partir de urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018.
- Se evidencio una resistencia antibiótica con aztreonam 47,5 (19/40), ceftriaxona 42,5% (17/40), ceftazidima 35% (14/40), cefotaxima 62,5% (25/40)
- Se determinaron los factores asociados a la presencia de betalactamasas siendo los más relevantes: la edad, sexo, incontinencia urinaria, litiasis renal, uso de antibiótico en los últimos tres meses, ITU en el último año e ITU severa.

- Se logró evidenciar una multirresistencia debido a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos, siendo de 35%.

## **VI.RECOMENDACIONES**

- Utilizar otras cepas de microorganismos para evaluar la resistencia
- Utilizar múltiples grupos de antibióticos para determinar la resistencia.
- Realizar la investigación en hospitales donde haya la posibilidad de evaluar microorganismos nosocomiales.

## **VII. AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a Dios por sus bendiciones, apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis familiares, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradezco a mis docentes de la Escuela de Farmacia y Bioquímica, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial, a mi asesor de tesis quien ha guiado con

su paciencia, y su rectitud como docente, y por su valioso aporte para nuestra investigación para lograr mis sueños.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ambler, R. P. (1980). "The structure of beta-lactamases." *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 289(1036): 321-31. Collatz, Labia, et al., 1990)
- Agurto, T. (2009). *Microbiología: Bioquímica Bacteriana*. Lima: Ed Imprenta Unión.
- Astete, S. et al. (2004). Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Rev. Soc. Per. Med. Inter.* 17(1)
- Barcelona, L., Marín, M., Stambouliau, D. (2008). Betalactámicos con Inhibidores de Betalactamasas: Amoxicilina – Sulbactam. *MEDICINA* 2008; 68(1): 65-74.
- Blanco, M., y Cremona, A. (2009). Manejo de las infecciones por organismos multirresistentes. *Infectología Crítica a Larga Distancia-Modulo IV*. Comité de Infectología Crítica. La Plata, Argentina.
- Bueno, G. (2010). Factores asociados a la infección por *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión – Callao:

Setiembre 2008-Diciembre 2009. [Tesis Pre Grado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.

Bush, K. (1989). "Characterization of beta-lactamases." *Antimicrob Agents Chemother* 33(3): 259-63.

Bretón, J. (2004). Vigilancia de la resistencia bacteriana en pediatría y su relación con el uso de antibióticos por medio del análisis de series temporales. [Tesis doctoral]. Universidad de Valencia. España.

Bratu, S., Landman, D., Haag, R., Recco, R., Eramo, A *et al.* (2005). Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumonia* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*, 165: 1430-1435.

Canton, R., A. Novais, et al. (2008). "Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe." *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1: 144-53

Castillo-Tokumori, F., Irey-Salgado, C., Malaga, G. (2017). Worrisome high frequency of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in community-acquired urinary tract infections: a case-control study. *Int J Infect Dis*. 55:16-19. doi: 10.1016/j.ijid.2016.12.007

Celis, Y. (2012). *Escherichia coli* uropatogénica resistente a múltiples antibióticos. *Rev. Fac. Nac. Salud Pública* Vol. 30 Supl. 1, diciembre 2012. Bogotá, Colombia.

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2013). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- De la Lastra, V., Ulloa, M., Pinto, M., Vidal, M., Silva, F. (2010). Serinocarbapenemas de clase A en enterobacterias. *Rev Hosp Clín Univ Chile* 21: 232-237.
- Díaz, J. (2008). Detección de metalobetalactamasas (MBLs) en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenemas en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008. Tesis para optar el grado académico de Magister en Microbiología. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú.
- Díaz, M., Hernández, J., et al. (2006). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH – BLEE). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 27(9): 503–510. Sevilla. España.
- Díaz, M., Hernández, J., Martínez, L., Rodríguez, J., Pascual, A. (2009). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH – BLEE, 2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 27(9): 503–510.
- Du Bois, S. K., M. S. Marriott, et al. (1995). "TEM- and SHV-derived extended spectrum beta-lactamasas: relationship between selection, structure and function." *J Antimicrob Chemother* 35(1): 7-22.

- Frere, J. M. (1995). "Beta-lactamases and bacterial resistance to antibiotics." *Mol Microbiol* 16(3): 385-95.
- Garau, J. (2008). "Other antimicrobials of interest in the era of extended spectrum beta-lactamases: fosfomicin, nitrofurantoin and tigecycline." *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1: 198-202.
- Gobernado, M. (2005). "[Extended-spectrum beta-lactamases on the rise.]" *Rev Esp Quimioter* 18(2): 115-7.
- Gupta, V. (2007). "An update on newer beta-lactamases." *Indian J Med Res* 126(5): 417-27.
- Gupta, K., Hooton, T.M., Naber, K.G., Wullt, B., Colgan, R., Miller, L.G., *et al.* (2011). International Clinical Practice Guidelines for the Treatment of Acute Uncomplicated Cystitis and Pyelonephritis in Women: A 2010 Update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis.* 52(5):e103-20. doi: 10.1093/cid/ciq257.
- Hernández, E. (2009). *Escherichia Coli* productores de BLEE aislados de urocultivo: Implicaciones en el diagnóstico y tratamiento de la Infección Urinaria. [Tesis Doctoral]. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Hernandez, J. R., L. Martinez-Martinez, *et al.* (2005). "Nationwide study of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum beta-lactamases in Spain." *Antimicrob Agents Chemother* 49(5): 2122-5.

- Heritage, J., F. H. M'Zali, et al. (1999). "Evolution and spread of SHV extended-spectrum beta-lactamases in gram-negative bacteria." *J Antimicrob Chemother* 44(3): 309-18.
- Jacoby, G. A. and L. S. Munoz-Price (2005). "The new beta-lactamases." *N Engl J Med* 352(4): 380-91
- Jaurin, B. and T. Grundstrom (1981). "ampC cephalosporinase of *Escherichia coli* K12 has a different evolutionary origin from that of beta-lactamases of the penicillinase type." *Proc Natl Acad Sci U S A* 78(8): 4897-901
- Joklik, W. K. (1996). "The story of penicillin: the view from Oxford in the early 1950s." *FASEB J* 10(4): 525-8.
- Johnson, L. et al. (2008). Emergence of fluoroquinolone resistance in outpatient urinary *Escherichia coli* isolates. *Am J Med.* 121 (10): 876-84. Toronto, Canadá.
- Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P., Winn, W. (2008). *Diagnóstico Microbiológico*. 6a ed. Buenos Aires: Ed Médica Panamericana SA.
- Levison, M. E. (2002). "Plasmid-mediated Extended-spectrum beta-Lactamases in Organisms Other Than *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*: A Hidden Reservoir of Transferable Resistance Genes." *Curr Infect Dis Rep* 4(3): 181-183.

- López-Cerero, La., y Álvaro, A. (2007). Epidemiología de las BLEE en la comunidad: un problema emergente. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 25 Supl. 2:23-8 Sevilla, España.
- Lossa, G. (2011). *Klebsiella pneumoniae* organismos productores de carbapenemasas (KPC). Disponible en: <http://www.vihda.gov.ar/Sitio%20VIHDAII/archivospublicaciones/Klebsiella%20pneumoniae%20carbapenemasas.pdf>
- Magiorakos, A.P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., *et al.* (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 18(3):268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
- Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de normas Técnicas N° 30. (2002). Instituto Nacional de Salud. Lima.
- Mandell, G., B. JE, et al. (2005). "Principles and Practice of Infectious Diseases " 1: 881-883Andréu,
- Madigan, M., Martinko, J., Parker, J., Brock. (2004). *Biología de los Microorganismos*. 10° ed., Editorial Pearson, Madrid, España.
- Medeiros, A. A., M. Cohenford, et al. (1985). "Five novel plasmid-determined betalactamases." *Antimicrob Agents Chemother* 27(5): 715-9Mercado, P.





[http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/alertas\\_epi\\_2010\\_02\\_julio\\_c  
arbapenemasas.pdf](http://new.paho.org/hq/dmdocuments/2010/alertas_epi_2010_02_julio_carbapenemasas.pdf)

Organización Panamericana de la Salud. (2011). Alerta Epidemiológica: Primer Hallazgo de carbapenemasas de tipo New Delhi metalobetalactamasas (NDM) en Latinoamérica. Noviembre del 2011.

Patterson, J. E. (2003). "Extended-spectrum beta-lactamases." *Semin Respir Crit Care Med* 24(1): 79-88.

Philippon, A., R. Labia, et al. (1989). "Extended-spectrum beta-lactamases." *Antimicrob Agents Chemother* 33(8): 1131-6.

Perozo, A., Castellano, M. (2009). Detección de Betalactamasas de Espectro Extendido en cepas de la familia Enterobacteriaceae. *Kasmera*. 37(1): 25-37.

Riveros, M., Marcelo, M., Alcedo, K., Alejos, S., Hinostroza, N., Ruiz, J, *et al.* (2017). Detection of ESBL-producing *E. coli* isolates among healthy children in Peru. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; Apr 22; Vienna, Austria.

Rosas, H. (2006). Detección de *Escherichia coli* en infecciones urinarias en pacientes que asistieron al instituto SEDALIS en la gestión 2003-2004. Tesina para obtener el título de Licenciatura en Bioquímica. Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia, 2006.

- Rivera, M., Rodríguez, C., Huayán, G., Mercado, P. (2011). Susceptibilidad a betalactámicos y resistencia por betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacteriaceae* aisladas de reservorios ambientales de un hospital general en Cajamarca, Perú. *Rev Med Hered*; 22(2): 69-75.
- Rivera, M., Rodríguez, C., Huayán, G. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* productora de betalactamasa clásica y de espectro extendido en reservorios de un servicio de neonatología. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*; 25(2): 250-52.
- Rivera, M. (2012). Betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella sp.* aisladas de reservorios inanimados en un hospital del norte del Perú. *Rev Esp Quimioter.* 25(2):161-163
- Sahm, D, et al. (2001). Multidrug-resistant urinary tract isolates of *Escherichia coli*: prevalence and patient demographics in the United States in 2000. *Antimicrob Agents Chemothe*; 45: 1402-6.
- Sorlózano, A. (2004). Betalactamasas de espectro extendido en nuestro medio: Aportaciones científicas. [Tesis Doctoral]. Universidad de Granada. España, 2004.
- Suarez, C., Kattan, J., Guzmán, A., Villegas, M. (2006). Mecanismos de resistencia a carbapenems en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infectio.* 10(2): 85-93.
- Tansarli, G.S., Karageorgopoulos, D.E., Kapaskelis, A., Falagas, M.E. (2013). Impact of antimicrobial multidrug resistance on inpatient care cost: an evaluation

of the evidence. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 11(3):321- 31. doi: 10.1586/eri.13.4.

Villegas, M. Prevalence of extended-spectrum b-lactamases in South America. *Compilation European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. CMI*, 14 (Suppl. 1), 2008:154–158.

Walther-Rasmussen, J. and N. Hoiby (2004). "Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum beta-lactamases." *Can J Microbiol* 50(3): 137-65.

Wiener, J., J. P. Quinn, et al. (1999). "Multiple antibiotic-resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes." *JAMA* 281(6): 517-23.

WHO. (2015a). Día Mundial de la Salud 2015: Inocuidad de los alimentos. <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2015/es/> (Último acceso 12 de junio del 2016).

WHO. (2015b). Foodborne Disease Burden Epidemiology reference Group 2007 – 2015. World Health Organization. Switzerland.

Yang, Q., Wang, H., Sun, H., Chen, H. Xu, Y. (2010). Phenotypic and Genotypic Characterization of Enterobacteriaceae with decreased susceptibility to carbapenems: Results from Large Hospital-Based Surveillances in China. *Antimicrob Agents Chemother.* 54(1): 573-577.

Zavala, E. (2006). Correlación entre producción de betalactamasas de espectro extendido en urocultivos y la multirresistencia antibiótica en el H.C.F.A.P. Julio 2005 - Diciembre 2006. Tesis para optar el grado de Maestro en Medicina con mención en Medicina Interna USMP. Disponible en: [http://www.medicina.usmp.edu.pe/academico/postgrado/publicaciones/tesis/maestria/art\\_1\\_resumen.php](http://www.medicina.usmp.edu.pe/academico/postgrado/publicaciones/tesis/maestria/art_1_resumen.php)

## IX. ANEXOS Y APENDICES

### Anexo 1. Edad y sexo de pacientes a los cuales se les tomo la muestra de orina

N°	SEXO	EDAD
1	M	49
2	F	43
3	F	41
4	F	35
5	M	18
6	M	45
7	F	58
8	F	30
9	M	36
10	F	30
11	F	45
12	M	27
13	F	27
14	F	26
15	M	21
16	F	31
17	F	41
18	F	57
19	M	30
20	F	27
21	F	32
22	F	18
23	M	43
24	F	54
25	F	33
26	F	15
27	M	34
28	F	33
29	M	22
30	M	22
31	F	36
32	F	56
33	F	32
34	F	29
35	M	34

36	F	22
37	M	34
38	M	19
39	M	18
40	F	29
41	M	28
42	F	33
43	F	22
44	F	26
45	F	28
46	F	34
47	M	67
48	F	45
49	F	23
50	F	52
51	M	47
52	F	52
53	F	33
54	M	49
55	F	51
56	F	45
57	M	36
58	F	24
59	F	61
60	F	32
61	M	54
62	F	43
63	F	45
64	M	23
65	F	44
66	M	56
67	F	34
68	F	42
69	M	34
70	F	33
71	M	34
72	F	25
73	F	50
74	M	28
75	F	56
76	M	53
77	M	55
78	M	26
79	F	45
80	F	43
81	F	29
82	F	34
83	F	20
84	M	36
85	F	37
86	M	39
87	M	27
88	F	42

89	F	32
90	M	57
91	F	35
92	M	19
93	F	28
94	F	45
95	M	31
96	F	35
97	F	26
98	M	54
99	F	22
100	F	33

**Anexo 2. Edad y sexo de pacientes a los cuales se les tomo la muestra de orina detectándose E. coli.**

N°	SEXO	EDAD
1	M	49
2	F	43
3	M	45
4	F	58
5	F	30
6	M	27
7	M	21
8	f	31
9	F	41
10	F	57
11	F	32
12	M	34
13	F	33
14	M	22
15	M	34
16	F	22
17	M	34
18	M	19
19	F	26
20	M	67
21	F	45
22	F	23
23	M	49
24	F	51
25	F	45
26	F	61
27	F	32
28	M	56
29	F	34
30	F	42
31	M	55
32	M	26
33	F	45
34	F	37
35	M	39
36	F	32
37	M	57
38	F	35
39	M	19
40	F	33

**Anexo 3.** Validez de los datos obtenidos al evaluar la multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de



*Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018.

N°	Aztreonam	Ceftriaxona	Ceftazidima	Cefotaxima	total
1	24	18	19	22	83
2	38	20	6	20	84
3	8	6	6	14	34
4	38	33	21	22	114
5	38	35	29	26	128
6	9	6	6	11	32
7	27	29	23	15	94
8	10	8	6	13	37
9	33	34	34	30	131
10	30	31	36	32	129
11	34	25	21	27	107
12	38	12	14	25	89
13	33	34	22	35	124
14	22	15	17	21	75
15	33	30	32	24	119
16	19	21	27	35	102
17	37	27	30	22	116
18	21	13	22	24	80
19	29	32	26	27	114
20	25	34	30	25	114
21	27	30	32	33	122
22	23	25	24	25	97
23	25	27	25	27	104
24	6	12	10	15	43
25	36	32	32	30	130
26	27	34	33	27	121
27	31	35	33	33	132
28	35	24	27	32	118
29	33	35	34	31	133
30	25	23	24	25	97
31	31	34	35	38	138
32	17	8	18	7	50
33	40	35	28	27	130
34	32	35	30	35	132
35	37	35	26	35	133
36	27	37	34	38	136
37	37	36	35	35	143
38	24	14	24	14	76
39	37	36	36	35	144

0	25	26	27	24	102
Var	79.7173077	95.6307692	78.6948718	61.9384615	984.225
					vt

alfa de crombach ( $\alpha$ )	
valores > 0.6 ó > 0.8	
$\alpha = [ K / K-1 ] [ 1 - \sum Vi/Vt ]$	
sesión 1	sección 2
k	40
$\sum Vi$	315.98
Vt	984.23
seccion 1	1.03
seccion 2	0.68
Absoluto s2	0.68
alfa	0.70
VALIDEZ	

**Anexo 4.** Intervalo de confianza al 99% de los datos obtenidos al evaluar la multirresistencia y factores asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* aisladas en urocultivos de pacientes atendidos en la clínica Salud primavera, Chimbote abril-julio 2018.

La proporción desconocida de la población, se representa con la letra griega  $\pi$ . La estimación puntual para  $\pi$  es la proporción de la muestra,  $p = \frac{X}{n}$ , donde  $n$  es el tamaño de la muestra y  $X$  es el número de elementos en la muestra que tienen la característica de interés. La siguiente ecuación define la estimación del intervalo de confianza para la proporción de la población.

$$p - Z \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \leq \pi \leq p + Z \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

Donde:

$$p = \text{proporción de la muestra} = \frac{X}{n}$$

$$= \frac{\text{número de elementos con característica de interés}}{\text{tamaño de la muestra}}$$

$\pi$  = proporción de la población

$Z$  = valor crítico para la distribución normal estandarizada

$n$  = tamaño de la muestra

para hallar el valor de  $z$  se tiene que hacer:

para nivel de confianza 99 % = 0.99

$1 - \alpha = 0.99$

$\alpha = 0.01$

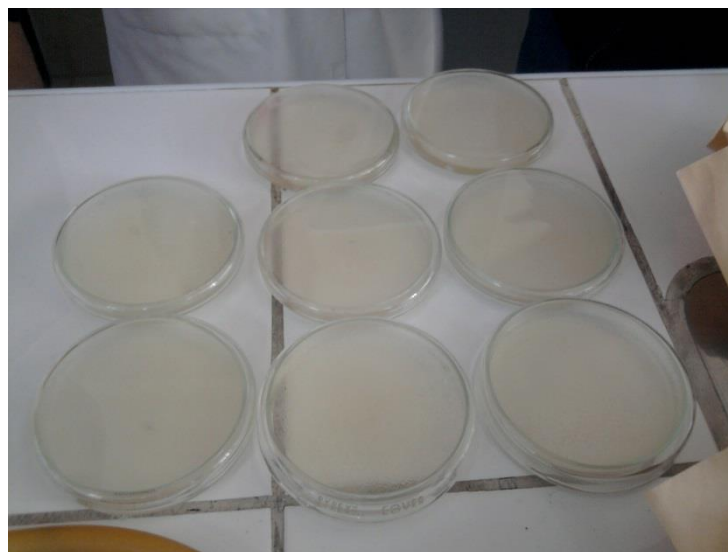
$Z(1-\alpha/2) = Z(1-0.01/2) = Z(1-0.005) = Z(0.995)$

$Z(0.995) = 2.57$

n°	tratamientos	n	x	p	Límite inferior	Límite superior
1	Aztreonan	40	19	0.475	0.27	0.68
2	Ceftriaxona	40	17	0.425	0.22	0.43
3	Ceftazidima	40	14	0.35	0.16	0.35
4	Cefotaxima	40	25	0.625	0.43	0.63
5	<b>MDR</b>	40	14	0.35	0.16	0.35
					$\leq p \leq$	

## ANEXO 5. EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS

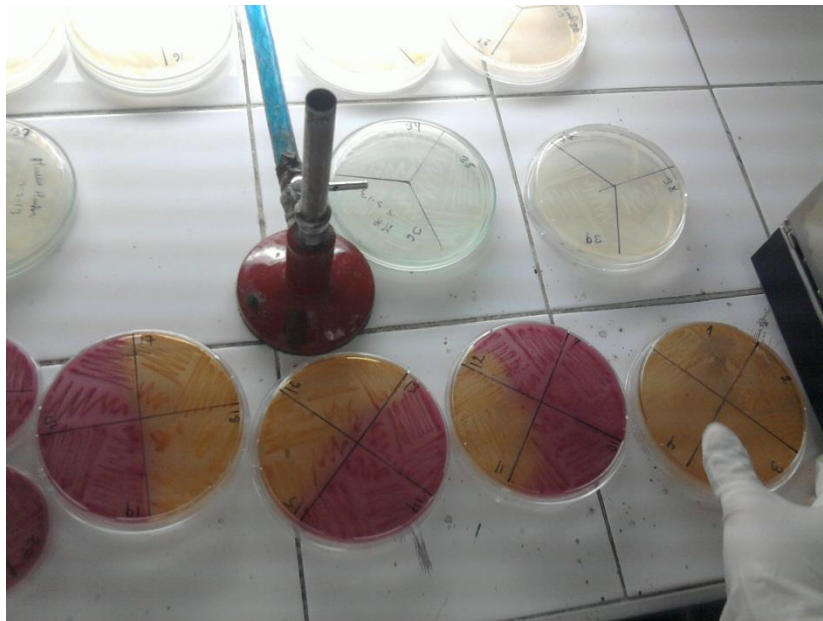
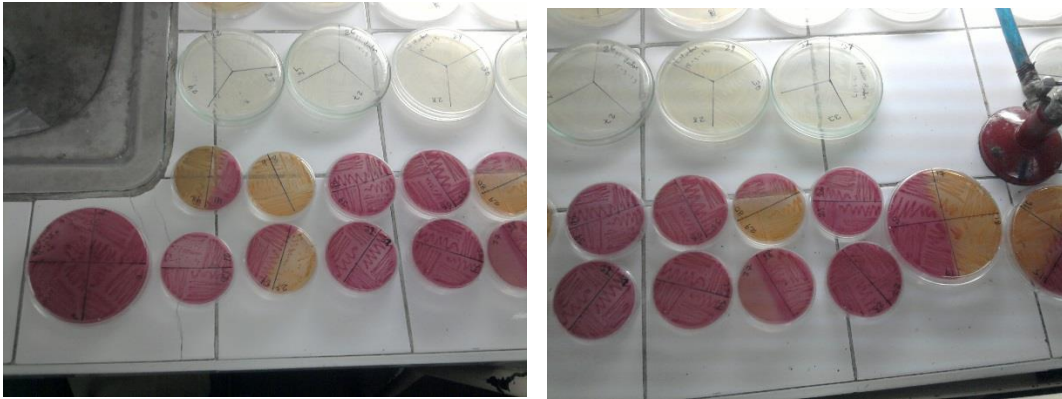
### Esterilización de materiales



### Auto clavado de Agar para cultivos

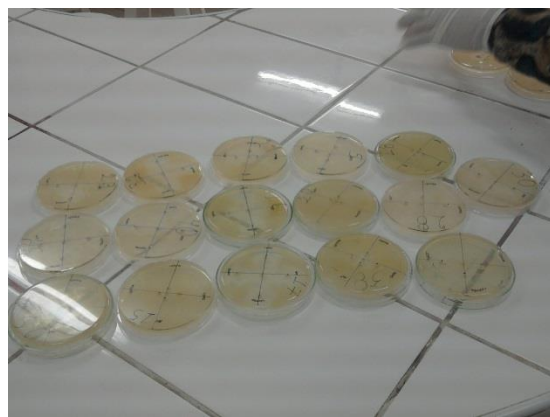
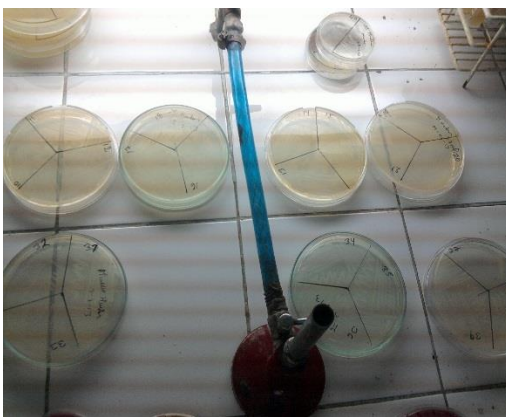
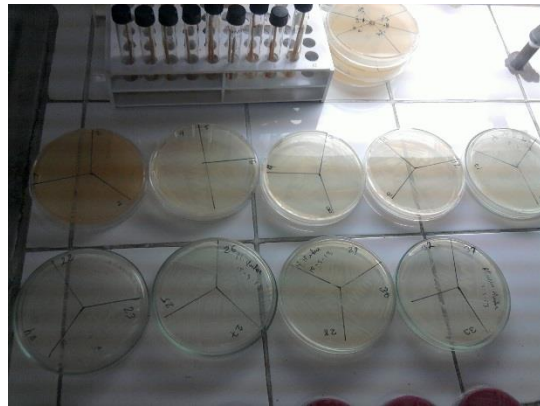
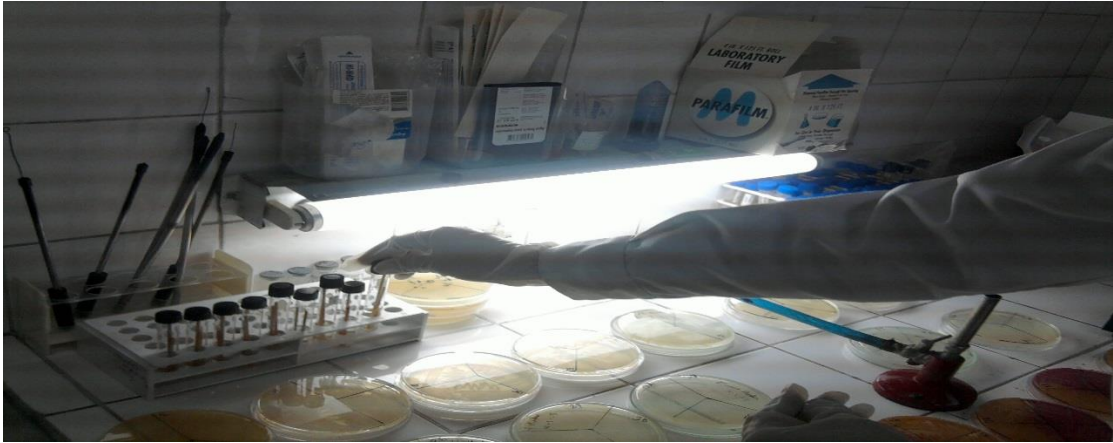


### Confirmación de cepas de *E. coli*

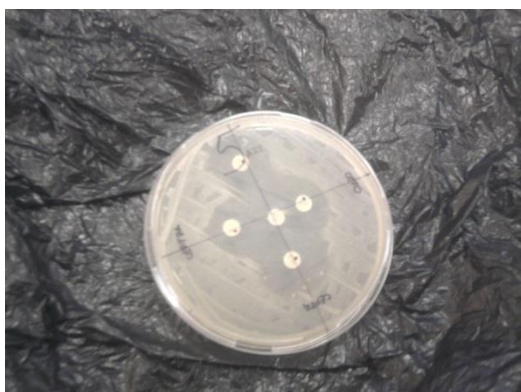




## Sembrado de placas con E. coli.



**Test confirmatorio de Betalactamasas de espectro extendido BLEE en cultivos de *E coli* - Método de Jarlier**





**Determinación de cultivos productores de Betalactamasas de espectro extendido (BLEE)**

